



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته فارچ شناسی

عنوان:

بررسی اثرات مهاری عصاره استاندارد شده و فراکسیون های مختلف سیاه دانه (*Nigella sativa* (L)

بر گونه ی کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به نیستاتین

توسط

ابوالفضل سراوانی جهانتیغ

استاد راهنما:

دکتر سید امین آیت الهی موسوی

استاد مشاور

دکتر فریبا شریفی فر

سال تحصیلی (آبان ۹۸)

شماره پایان نامه: (۵۵۶)



KERMAN UNIVERSITY
OF MEDICAL SCIENCES

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree MSc

Title

Inhibitory effects of standardized extract and different fractions of (*Nigella sativa L.*) on susceptible and resistant nystatin *Candida albicans*

By

Abolfazl saravani jahantiq

Supervisor

Dr. Seyyed Amin Ayatollahi-Musavi

Asvisor

Dr. Fariba Sharififar

Thesis No : (۵۵۶)

Date (Oct/۲۰۱۹)

چکیده

زمینه و هدف: کاندیدیازیس عفونتی فرصت طلب ناشی از گونه های مختلف کاندیدا است که با ضعف ایمنولوژیک میزبان تظاهر می یابد. محدودیت هایی همچون عوارض جانبی داروها و مقاومت دارویی در درمان بیماری های قارچی باعث توجه محققان به داروهای جدید خصوصاً داروهای گیاهی در درمان این بیماری ها شده است. هدف این مطالعه بررسی اثرات مهاری عصاره استاندارد شده و فراکسیون های مختلف سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) برگونه های کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به نیستاتین است.

مواد و روشها: سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس (ATCC ۷۶۶۴۵) حساس به نیستاتین از مرکز انستیتو پاستور ایران خریداری شد. نمونه کاندیدا آلبیکنس مقاوم به نیستاتین نیز از بیماران بستری و سرپایی مراجعه کننده به بیمارستانهای آموزشی شهر کرمان جمع آوری و کشت روی محیط سابرروز دکستروز آگار انجام و شناسایی ایزوله مقاوم با استفاده از روش های فنوتیپی انجام شد. عصاره ی تام متانولی گیاه و فراکسیون های پترولیوم اتر، کلروفرم، متانول، و آبی با روش سونیکاسیون تهیه شد. استاندارد سازی گیاه بر اساس تعیین مقدار تیموکینون به روش اسپکتروفوتومتری انجام شد و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) این فراکسیون ها و عصاره تام بر روی سویه کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به نیستاتین، با استفاده از روش میکرودایلوشن و طبق استاندارد CLSI M۲۷-A۳ مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه از داروی نیستاتین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. یافته ها بر اساس روش آماری (ANOVA) بررسی شدند.

نتایج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان MIC داروی نیستاتین برای سویه حساس و مقاوم به نیستاتین به ترتیب ۲ و ۱۶ میکروگرم در میلی لیتر بود. بیشترین تأثیر ضد قارچی و کمترین MIC ($62/5 \mu\text{g/ml}$) و MFC ($125 \mu\text{g/ml}$) در عصاره ی پترولیوم اتر علیه کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به نیستاتین و سپس در کلروفرم MIC ($125 \mu\text{g/ml}$) و MFC ($250 \mu\text{g/ml}$) علیه کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به نیستاتین مشاهده شد و سپس عصاره ی تام MIC ($125 \mu\text{g/ml}$) و MFC ($500 \mu\text{g/ml}$) علیه کاندیدا آلبیکنس حساس به نیستاتین و MIC ($125 \mu\text{g/ml}$) و MFC ($1000 \mu\text{g/ml}$) علیه کاندیدا آلبیکنس مقاوم به

نیستاتین ، عصاره متانول MIC ($250 \mu\text{g/ml}$) و MFC ($500 \mu\text{g/ml}$) علیه کاندیدا آلبیکنس حساس به نیستاتین و MIC ($500 \mu\text{g/ml}$) و MFC ($1000 \mu\text{g/ml}$) علیه کاندیدا آلبیکنس مقاوم به نیستاتین و عصاره آبی MIC ($1000 \mu\text{g/ml}$) علیه کاندیدا آلبیکنس حساس به نیستاتین و MIC ($\geq 1000 \mu\text{g/ml}$) علیه کاندیدا آلبیکنس مقاوم به نیستاتین و MFC ($\geq 1000 \mu\text{g/ml}$) علیه کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به نیستاتین قرار دارند و همچنین تایموکینون (0.78 ppm) علیه کاندیدا آلبیکنس حساس به نیستاتین و ($3/12 \text{ ppm}$) علیه کاندیدا آلبیکنس مقاوم به نیستاتین و در مقایسه با داروی نیستاتین دارای اثر ضد قارچی معنی دار بود ($p > 0.05$)

نتیجه گیری: گیاه سیاهدانه دارای اثرات ضد قارچی قوی بر علیه کاندیدای حساس و مقاوم به نیستاتین است. می توان نتیجه گرفت که ترکیبات فعال گیاه متعلق به گروه خاصی از متابولیتها است که با توجه به نوع حلال ، احتمالاً ماهیت غیر قطبی دارند. عصاره آبی فاقد اثرات مهاری و ضد قارچی است. به نظر می رسد عصاره ی آبی حاوی ترکیبات ضد قارچی نیست اما عصاره ی الکلی در غلظت بالا به دلیل استخراج ترکیبات ضد قارچی سیاه دانه، تأثیر بازدارندگی دارد و می تواند در طب سنتی علیه مخمر کاندیدا آلبیکنس کاربرد داشته باشد.

کلمات کلیدی: اثرات ضد قارچی ، سیاهدانه، فراکسیون پترولیوم اتر، فراکسیون کلروفرم، فراکسیون

متانولی، کاندیدا آلبیکنس

Abstract

Background: Occasional infectious candidiasis is caused by different species of *Candida*, which is characterized by host immunologic weakness. The aim of this study was to investigate the inhibitory effects of standardized extract and different fractions of (*Nigella*

Materials and Methods: *Candida* standard strain *Candida A.* (ATCC 10231) sensitive to nystatin was purchased from the Pasteur Institute of Iran. Nystatin-resistant *Candida albicans* samples were also collected from hospitalized and outpatient patients referred to educational hospitals of Kerman. The standardized extracts were prepared by spectrophotometry and the extracts of petroleum ether, chloroform, methanol, total and water by sonication and their antifungal effect on *Candida* strains by microdilution method with concentrations of 1000, 500, 250, 125, 62/25, 31/31, 15/15, 7/7, 3/3 / 1 mg / ml were studied. MIC and MFC were determined after 24 h culture. Results were analyzed by ANOVA statistical test .

Results: The results of the present study showed that the MIC of nystatin was 2 and 16 $\mu\text{g} / \text{ml}$ for nystatin susceptible and resistant strains, respectively. Maximum antifungal effect and lowest MIC (62/5 $\mu\text{g} / \text{ml}$) and MFC (125 $\mu\text{g} / \text{ml}$) in petroleum ether extract against nystatin-sensitive and resistant *Candida albicans* and then in chloroform MIC (125 $\mu\text{g} / \text{ml}$) and MFC (250 $\mu\text{g} / \text{ml}$) against nystatin-sensitive and resistant *Candida albicans* was observed and then methanol MIC (250 $\mu\text{g} / \text{ml}$) MFC (500 $\mu\text{g} / \text{ml}$) against nystatin-sensitive *Candida albicans* and MIC (500 $\mu\text{g} / \text{ml}$) MFC (1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$) against nystatin-resistant *Candida albicans*, total MIC (125 $\mu\text{g} / \text{ml}$) MFC (500 $\mu\text{g} / \text{ml}$) against nystatin-sensitive *Candida albicans* and MIC (125 $\mu\text{g} / \text{ml}$) MFC (1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$) against nystatin-resistant *Candida albicans* and aqueous extract MIC (1000

$\mu\text{g} / \text{ml}$) MFC($\geq 1000 \mu\text{g} / \text{ml}$) against nystatin-sensitive *Candida albicans* and MIC($\geq 1000 \mu\text{g} / \text{ml}$) MFC($\geq 1000 \mu\text{g} / \text{ml}$) were against nystatin-resistant *Candida albicans*, as well as thymoquinone (0.778 ppm) against nystatin-sensitive *Candida albicans* and (3.12 ppm) against nystatin-resistant *Candida albicans* had significant antifungal effect compared to nystatin ($p > 0.05$).

Conclusion: Extracts and fractions of petroleum ether, chloroform, methanol and total have antifungal effects on nystatin sensitive and resistant *Candida albicans*. The aqueous extract has no inhibitory and antifungal effects. Alcoholic extract At high concentrations, due to the extract of antifungal compounds of (*Nigella sativa* L.), it has inhibitory effect and can be used in traditional medicine against *Candida albicans*.

Keywords: *Candida albicans*, Fraction, Black seed, Aqueous extract, Petroleum ether, Methanol



بسمه تعالی

تاریخ: ۹۸/۸/۲۷

شماره: ۹۸/۳/۵۶۷

کد اخلاق: ۱۳۹۰/۷/۶۰۲۲

صور تجلسه دفاع از پایان نامه

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تحصیلات تکمیلی دانشگاه

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی آقای ابوالفضل سرواوانی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته فارچ شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان بررسی اثرات مهاری ماده استاندارد شده و فراکسیون های مختلف سیاه دانه (*Nigella sativa* L) بر گونه ی کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به نیستاتین " در ساعت ۱۰/۳۰ روز دوشنبه مورخ ۹۸/۸/۲۷ حضور اعضای محترم هیات داوران متشکل از:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضا
الف: استادان راهنما	جناب آقای دکتر سید امین آیت اللهی موسوی	
ب: استادان مشاور	سرکار خانم دکتر فریبا شریفی فر	
ج: عضو هیات داوران (داخلی)	سرکار خانم دکتر ستاره آقا کوچک افشاری	
د: عضو هیات داوران (خارجی)	جناب آقای دکتر مهدی رضایی فر	
ه: نماینده تحصیلات تکمیلی	سرکار خانم دکتر ستاره آقا کوچک افشاری	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه عالی و نمره ۱۹/۵۰ مورد تأیید قرار گرفت.

